

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-371131  
(43)Date of publication of application : 26.12.2002

---

(51)Int.CI. C08G 65/333  
A61L 27/00  
C08J 5/18  
// C08L 71:02

---

(21)Application number : 2001-179241 (71)Applicant : NOF CORP  
(22)Date of filing : 13.06.2001 (72)Inventor : OGURA ATSUHIKO  
TANAKA SHINJI  
NAKAJIMA KIWA  
KITANO SHIGERU

---

**(54) POLYMER, IN VIVO ABSORPTIVE MATERIAL AND FILM FOR PREVENTING ADHESION OF TISSUE**

**(57)Abstract:**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide in vivo absorptive A1BA2 polymer having good physical properties in a dry state and capable of disappearing within a definite period in the body.

**SOLUTION:** The A1BA2 polymer having 10,000 to 600,000 number-average molecular weight, in which a segment B comprises a polyethylene glycol having 8,000 to 300,000 number-average molecular weight and a segment A1 is bound to one end of the segment B and a segment A2 is bound to the other end of the segment B is provided. These segments A1 and A2 contain a modified amino acid group or unmodified amino acid group.

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-371131

(P2002-371131A)

(43)公開日 平成14年12月26日 (2002.12.26)

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	マーク <sup>*</sup> (参考)
C 0 8 G 65/333		C 0 8 G 65/333	4 C 0 8 1
A 6 1 L 27/00		A 6 1 L 27/00	Y 4 F 0 7 1
C 0 8 J 5/18	CEZ	C 0 8 J 5/18	CEZ 4 J 0 0 5
// C 0 8 L 71:02		C 0 8 L 71:02	

審査請求 未請求 請求項の数 6 OL (全 10 頁)

(21)出願番号 特願2001-179241(P2001-179241)

(22)出願日 平成13年6月13日 (2001.6.13)

(71)出願人 000004341  
日本油脂株式会社  
東京都渋谷区恵比寿四丁目20番3号  
(72)発明者 小倉 敦彦  
茨城県土浦市富士崎1-8-21  
(72)発明者 田中 信治  
茨城県つくば市梅園2-15-5  
(72)発明者 中島 審和  
茨城県つくば市春日2-26-2  
(72)発明者 北野 茂  
茨城県つくば市春日2-17-14

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ポリマー、生体内吸収性材料および組織接着防止膜

(57)【要約】

【課題】乾燥状態で良好な物性を有しつつ体内で一定期間内に消失しうる生体内吸収性のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーを提供する。

【解決手段】数平均分子量8,000~300,000のポリエチレングリコールからなるセグメントBと、セグメントBの一端にセグメントA<sup>1</sup>が結合し、他端にセグメントA<sup>2</sup>が結合した、数平均分子量10,000~600,000のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型のポリマーであって、A<sup>1</sup>とA<sup>2</sup>が修飾アミノ酸基および未修飾アミノ酸基を共に含んでなることを特徴とするA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマー。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】数平均分子量8,000～300,000のポリエチレングリコールからなるセグメントBと、セグメントBの一端にセグメントA<sup>1</sup>が結合し、他端にセグメントA<sup>2</sup>が結合した、数平均分子量10,000～600,000のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型のポリマーであって、A<sup>1</sup>とA<sup>2</sup>が修飾アミノ酸基および未修飾アミノ酸基を共に含んでなることを特徴とするA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマー。

【請求項2】修飾アミノ酸基が、 $\beta$ -ベンジル-L-アスパルテートまたは $\alpha$ -ベンジル-L-グルタメートであり、未修飾アミノ酸基がL-アスパラギン酸、L-グルタミン酸、 $\beta$ -ベンジル-L-アスパラギン酸塩および $\alpha$ -ベンジル-L-グルタミン酸塩からなる群より選ばれる1種以上の未修飾アミノ酸基である請求項1に記載のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマー。

【請求項3】セグメントA<sup>1</sup>およびセグメントA<sup>2</sup>とに含まれる修飾アミノ酸基が、セグメントA<sup>1</sup>およびセグメントA<sup>2</sup>とを合計したアミノ酸全量の30～90モル%の範囲で含まれることを特徴とする請求項1に記載のポリマー。

【請求項4】セグメントBのポリエチレングリコールの両端にA<sup>1</sup>’およびA<sup>2</sup>’の修飾ポリアミノ酸基を結合させたA<sup>1</sup>’BA<sup>2</sup>’型ポリマーを得た後、これを原料として、修飾基を一部脱離させて請求項1～3のいずれか1項に記載のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーを得ることによる、前記A<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーの生体中での加水分解性をコントロールする方法。

【請求項5】請求項1～3のいずれか1項に記載のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーを含んでなる生体内吸収性材料。

【請求項6】請求項1～3のいずれか1項に記載のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーからなる組織癒着防止膜。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、生体内吸収性のポリマー、生体内吸収性材料および組織癒着防止膜に関する。更に詳しくは、ブロックセグメント(B)が水溶性のポリエチレングリコールよりなり、両端のポリアミノ酸セグメント(A<sup>1</sup>、A<sup>2</sup>)が修飾アミノ酸および未修飾アミノ酸を共に含んでなるポリマー、およびこれを用いて作製された、乾燥状態で良好な力学的強度と柔軟性を有し、生体内に埋入した場合、速やかに水分を吸収して含水ゲルを形成し、かつ体内に大量に埋入した場合でさえ一定期間内に分解吸収が可能なA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマー、生体内吸収性材料および組織癒着防止膜に関する。

## 【0002】

【従来の技術】生体材料として用いられる高分子材料には、非発熱性、非アレルギー性等の非毒性、力学的特性等の組織あるいは生体への適合性、物質分離性、薬物徐放性等の使用用途に応じた機能性が求められる。例えば、外科手術後に起こる組織の癒着を防止するために癒

着防止膜が用いられる。このような癒着防止膜には、

(1) 良好な組織への接着性、(2) 組織への非接着性および低刺激性、(3) 手術後再摘出を不要とするための速やかな生体内分解性、(4) ハンドリングに影響する乾燥状態における優れた物性(力学的強度および弹性)等が求められている。しかし、従来開発されている材料は、要求される機能性等のバランスが必ずしも満足しうるものではなく、これらの条件をバランスよく満足する材料の開発が望まれている。

【0003】従来、セグメント(B)としてポリエチレングリコール、両端のポリアミノ酸基セグメント(A<sup>1</sup>、A<sup>2</sup>)としてポリ- $\beta$ -ベンジル-L-アスパルテート(以下、PBLAと略すこともある。)あるいはポリ- $\beta$ -ベンジル-L-グルタメート(以下、PBLGと略することもある。)よりなるA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ブロックコポリマーに関する技術が開示されているが、これらのポリマーは良好な力学的特性が得られるものの、生体内における崩壊速度が比較的遅く、体内に大量に埋入した場合、1週間以内といった短期間に完全に消失しない場合が認められた(国際公開番号WO00/771602A 1、明細書)。

【0004】また、生体内吸収性材料としては、ヒアルロン酸、コラーゲン、カルボキシメチルセルロース、ポリカプロラクトン、再生セルロースやポリ乳酸、ポリグリコール酸およびこれらのコポリマーが知られているが、何れも理想的な生体内吸収速度が得られにくい、あるいは力学的強度や弹性が不足するといった問題があった。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、体内に大量に埋入した場合でも所定期間に完全に消失するA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型の生体内分解性のポリマーを提供することである。本発明の別の目的は、前記ポリマーを含んでなる、乾燥状態で良好な力学的特性を有する材料を用いた生体内吸収性材料、および組織癒着防止膜を提供することである。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決するために銳意検討した結果、水溶性のブロックセグメントBとしてポリエチレングリコール、両端の非水溶性セグメントが修飾アミノ酸基および未修飾アミノ酸基よりなるセグメントA<sup>1</sup>、セグメントA<sup>2</sup>であるポリマーを用いて作製される材料が乾燥状態で良好な強度、弹性、低刺激性および体内に大量に埋入した場合でも一定期間内に完全に消失する生体内吸収性を有することを見出し、本発明を完成した。本発明によれば、修飾アミノ酸および未修飾アミノ酸を共に含んでなるセグメントA<sup>1</sup>およびセグメントA<sup>2</sup>と、数平均分子量8,000以上のポリエチレングリコールからなるセグメントBとかなり、セグメントBの一端にセグメントA<sup>1</sup>が結合

し、セグメントBの他端にセグメントA<sup>2</sup>が結合した、数平均分子量10,000~600,000のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型のポリマーが提供される。セグメントBのポリエチレングリコールの両端にA<sup>1</sup>'およびA<sup>2</sup>'の修飾ポリアミノ酸基を結合させたA<sup>1</sup>'BA<sup>2</sup>'型ポリマーを得た後、これを原料として、修飾基を一部脱離させて前記のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーを得ることによる、前記A<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーの生体中での加水分解性をコントロールする方法が提供される。また本発明によれば、前記A<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーを用いた生体内吸収性材料が提供される。更に本発明によれば、前記A<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーからなる組織接着防止膜が提供される。

## 【0007】

【発明の実施の形態】本発明のポリマーは、分子の中にセグメントBを持ち、その両端に、前記のBのブロックセグメントとは異なる種類の非水溶性セグメント(A<sup>1</sup>、A<sup>2</sup>)を持つ、A<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーであって、前記のA<sup>1</sup>、A<sup>2</sup>の少なくともいずれか一方には、修飾アミノ酸基および未修飾アミノ酸基を共に含んでいる構造のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーである。本発明のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーは、セグメントBが数平均分子量8,000以上のポリエチレングリコール(以下、PEGと略すこともある。)、セグメントBの一端にセグメントA<sup>1</sup>が結合し、セグメントBの他端にセグメントA<sup>2</sup>が結合した、全体の数平均分子量10,000~600,000のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーである。なお、A<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型のセグメントA<sup>1</sup>とセグメントA<sup>2</sup>部分は修飾アミノ酸基および未修飾アミノ酸基よりなるセグメントであり、分子量および修飾アミノ酸基含量は同一でも異なってもよい。A<sup>1</sup>=(a<sup>11</sup>)m<sup>1</sup>+(a<sup>12</sup>)m<sup>2</sup>、A<sup>2</sup>=(a<sup>21</sup>)n<sup>1</sup>+(a<sup>22</sup>)n<sup>2</sup>とする。ここで、a<sup>11</sup>、a<sup>21</sup>は修飾アミノ酸基、a<sup>12</sup>、a<sup>22</sup>は未修飾アミノ酸基、m<sup>1</sup>、m<sup>2</sup>、n<sup>1</sup>、n<sup>2</sup>はそれぞれの基のモル数とする。m<sup>1</sup>≥0、m<sup>2</sup>≥0、n<sup>1</sup>≥0、n<sup>2</sup>≥0、m<sup>1</sup>+m<sup>2</sup>≥1、n<sup>1</sup>+n<sup>2</sup>≥1である。

【0008】本発明のポリマーの数平均分子量が、10,000より小さいと、また600,000より大きいと、生体に埋入される材料に求められる力学的特性および非刺激性を満足する生体内吸収性材料を容易に得ることができない。

【0009】本発明の修飾アミノ酸基としては、アスパラギン酸あるいはグルタミン酸が好ましい。アスパラギン酸およびグルタミン酸は側鎖にカルボキシル基を有するため、ベンジルアルコールを、エステル化することにより、疎水化することができ、かつ、エステル結合は生体内において容易に脱離することから、生体内吸収性材料として好ましい。

【0010】本発明のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーは、セグメントA<sup>1</sup>とセグメントA<sup>2</sup>に相当する非水溶性セグメントの修飾アミノ酸含量が、全アミノ酸含量の30mο1%~

90mο1%であることが好ましいが、望ましくは35mο1%~85mο1%、更に望ましくは40mο1%~80mο1%を含んでなるものである。修飾アミノ酸含量が30mο1%未満および90mο1%を超える場合、理想的な吸収速度を容易に得ることができない。理想的な吸収速度は、使用するポリマーの形状や用途によって異なるが、通常2日~1週間以内で生体中で吸収される。より好ましくは、3日~6日、さらに好ましくは4日~6日である。接着防止膜に限定して言えば、3~6日が望ましく、さらには、4日~6日が望ましい。

【0011】本発明のポリマー中、前記のBに相当するブロックセグメントを構成する水溶性のポリエチレングリコールの原材料としては、末端にアミノ基を有するポリエチレングリコールが使用できる。A<sup>1</sup>-B、B-A<sup>2</sup>間の結合は特に限定されないが、例えばアミノメチル基、アミノエチル基、アミノプロピル基等の基が両末端についたポリエチレングリコールが挙げられる。ポリエチレングリコールのブロックセグメントの数平均分子量が8,000~300,000であるものが良好な生体内吸収性速度および力学的特性をバランスしやすいとの理由から好ましい。

【0012】前記のセグメントA<sup>1</sup>、セグメントA<sup>2</sup>に相当するポリアミノ酸セグメントは、構成分子中に疎水性修飾アミノ酸ユニットを少なくとも1つ以上有していれば、本発明で言うポリマーを構成することができる。2日~1週間以内という短期間に生体内吸収性を発揮するためには、前記のセグメントA<sup>1</sup>、セグメントA<sup>2</sup>に相当するセグメントは、修飾アミノ酸および未修飾アミノ酸により構成されたセグメントである必要がある。

【0013】本発明のポリマーのポリ修飾アミノ酸を合成するために用いられる修飾アミノ酸とは、ホスゲン法によりアミノ酸-N-カルボン酸無水物(以下、NCAと略すこともある。)を合成する際に、官能基であるカルボキシル基、アミノ基、水酸基、チオール基などを予め保護しておくために保護基によって保護したアミノ酸を指す。

【0014】具体的には、アミノ酸分子中の保護されるべき官能基がカルボキシル基の場合は、保護基はベンジル基またはメチル基である。また、官能基がアミノ基の場合は、保護基はベンジルオキシカルボニル基、ベンジル基またはo-ニトロフェニルスルフェニル基である。さらに、官能基が水酸基の場合は、保護基はベンジル基またはアセチル基である。官能基がチオール基の場合は、保護基はベンジル基である。

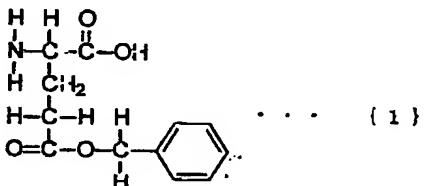
【0015】本発明のポリマーで用いるアミノ酸の具体例としては、アラニン、ロイシン、リジンおよびバリンが挙げられる。また、本発明のポリマーで言う未修飾アミノ酸とは、アミノ酸側鎖の官能基が金属等によって塩を形成しているものも含まれる。

【0016】本発明のポリマー中の、両端のブロックセ

グメントを構成するアミノ酸のうち、代表的なアーベンジルグルタミン酸（以下、BLGと略すこともある。）を式①に、グルタミン酸（以下、Gluと略すこともある。）を式②に、グルタミン酸ナトリウム塩（以下、Glu Naと略すこともある。）を式③にそれぞれ示す。

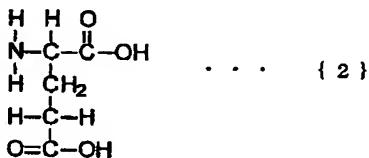
【0017】

【化1】



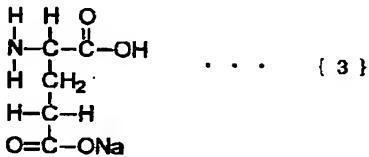
【0018】

【化2】

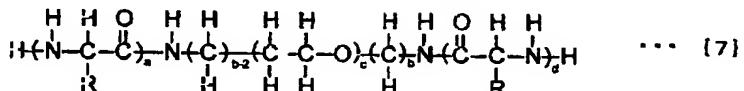


【0019】

【化3】



【0020】また、 $\beta$ -ベンジルアスパラギン酸（以下、BLAと略すこともある。）を式④に、アスパラギン酸（以下、Aspと略すこともある。）を式⑤に、アスパラギン酸ナトリウム塩（以下、Asp Naと略すこともある。）を式⑥にそれぞれ示す。

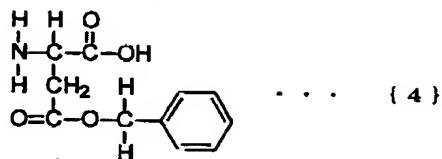


【0027】式中、 $\alpha$ および $\beta$ は、それぞれ前記セグメントA<sup>1</sup>、セグメントA<sup>2</sup>部分の繰り返し数で1以上の整数であり、より好ましくは5～80の整数である。 $\beta$ はPEGとアミノ酸部分結合部のメチレン部の繰り返しで1～10の整数であり、 $\alpha$ はオキシエチレン基の繰り返し数で200～1,200の整数である。本発明のポリマー式④で示されるポリマーを1種用いてもよいし、2種以上の混合物として用いてもよい。なお、式④中で用いられている繰り返し数、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ は、先に示した数平均分子量を式④を基準として考える大まかな数字として示した。

【0028】本発明のA<sup>1</sup>-BA<sup>2</sup>型ポリマーの修飾基を一部脱離させる方法としては、一般的に知られている

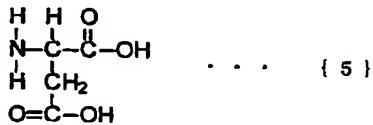
【0021】

【化4】



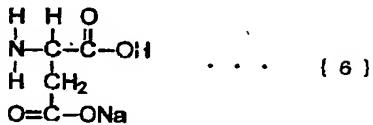
【0022】

【化5】



【0023】

【化6】

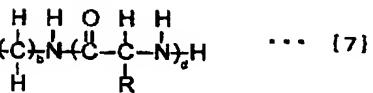


【0024】A<sup>1</sup>-BA<sup>2</sup>の重合体の数平均分子量が10,000～600,000で、セグメントBの部分の数平均分子量が8,000～300,000である。好ましくは、10,000～50,000である。

【0025】セグメントA<sup>1</sup>またはセグメントA<sup>2</sup>個々の部分の数平均分子量は、1,000～150,000で、好ましくは、2,000～40,000である。このようなポリマーのうち、特に生体に対して低刺激性が要求される分野に使用する場合、下記式⑦で表されるポリマーが特に望ましく用いられる。ただし、式⑦中のRは、-CH<sub>2</sub>COONa、-CH<sub>2</sub>COOHあるいは-CH<sub>2</sub>COOC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>のいずれかである。

【0026】

【化7】



方法が用いられるが、具体的には、アルカリ溶液による加水分解反応、接触水素添加反応あるいは酵素反応により修飾基の一部を脱離させることができる。

【0029】本発明のポリマーの製造方法は、公知の合成方法が挙げられる。例えば、本発明のポリマーは両末端に1級アミノ基を量末端に有する市販のPEGを開始剤として、修飾アミノ酸-N-カルボン酸無水物を開環付加重合させてA<sup>1</sup>-BA<sup>2</sup>型ポリマーを得た後にアルカリ加水分解、接触水素添加反応あるいは酵素分解によって側鎖の修飾部分の一部を分解することにより本発明のA<sup>1</sup>-BA<sup>2</sup>型ポリマーを容易に得ることができる。

【0030】このようにして合成したポリマーの内、本発明に用いられるポリマーは、10,000～600,

000の数平均分子量を有するものである。また、ポリマーの各セグメントの数平均分子量は、原材料PEGの分子量、NCAおよびアルカリの添加量により、容易に制御することができるが、力学的強度および弾性率を考慮した場合、BセグメントであるPEGセグメントの数平均分子量は、8,000~300,000が望ましく、更に望ましくは10,000~50,000であり、最も望ましくは12,000~30,000である。PEGセグメントの数平均分子量が8,000未満の場合、十分な物性が得られにくい。PEGセグメントの数平均分子量が300,000を超える場合は、その原料のPEG製品の粘度が高くなり、取り扱い難くなるので製造上好ましくない。

【0031】また、ポリアミノ酸セグメントであるセグメントA<sup>1</sup>およびセグメントA<sup>2</sup>の個々の数平均分子量は、1,000~150,000であり、更に望ましくは2,000~40,000であり、もっとも望ましくは5,000~10,000である。ポリアミノ酸セグメントのセグメントA<sup>1</sup>とセグメントA<sup>2</sup>の合計の数平均分子量は、数平均分子量が2,000~300,000である。より好ましくは4,000~80,000であり、さらに望ましくは10,000~20,000である。セグメントA<sup>1</sup>とセグメントA<sup>2</sup>の合計の数平均分子量が2,000未満あるいは300,000を超える場合、十分な力学的特性が得られないで好ましくない。

【0032】また、本発明のポリマーは、生体に埋入される材料に求められる力学的特性および非刺激性を満足する生体内分解性材料である。本発明のポリマーを生体内吸収性材料として用いる場合は、例えばキャスト法あるいは加熱溶融プレス法により容易にシート状に成型することができる。このようにして得られた生体内分解性材料は、乾燥状態において良好な力学的強度とゴム弾性の特徴を有する。本発明のポリマーによる生体内吸収性材料および、そのシートの生体内分解速度は、B成分のブロックセグメント、A<sup>1</sup>、A<sup>2</sup>の両端のセグメントの数平均分子量および分子量比、シートの厚み、未修飾アミノ酸/修飾アミノ酸のm/o比などを適宜コントロールすることによって容易に制御することができる。

【0033】また、本発明のポリマーは、他の公知のポリマー類と混合して用い、生体内分解性材料とすることもできる。このような場合、用いることができるポリマー類としては、例えばPEG-PBLAトリブロックコポリマー、PEG-PBLGトリブロックコポリマー、ヒアルロン酸、コラーゲン、カルボキシメチルセルロース、ポリカプロラクトン、ポリ乳酸、ポリグリコール酸およびこれらのコポリマー等がある。ここで、PBLA、PBLGは、それぞれポリβ-ベンジルアスパラギン酸、ポリα-ベンジルグルタミン酸を示す。

【0034】また本発明のポリマーを組織癒着防止膜として用いる場合、前記に示した方法によりシート状に成

型することによって組織癒着防止膜として好適に用いることができる。

【0035】この他、本発明のポリマーは、保水性、ハイドロゲル形成能、生体内吸収性等の固有の特徴を生かして、トイレタリー製品や化粧品など、種々の製品に応用展開することもできる。

【0036】

【発明の効果】本発明によれば、ブロックセグメントBが親水性のポリエチレンゴルよりなり、両端のセグメントA<sup>1</sup>およびA<sup>2</sup>が疎水性の修飾アミノ酸基および未修飾アミノ酸基を含んでなる数平均分子量が10,000~600,000のA<sup>1</sup>BA<sup>2</sup>型ポリマーを用いることにより、組織癒着防止膜等の生体に埋入される材料に求められる力学的特性および非刺激性を満足する材料が提供される。

【0037】本材料は、水中でハイドロゲルを形成するが、このハイドロゲルは十分な柔軟性を有しており、水中で膨潤した状態のまま室温において長期静置しても膨潤直後の形態が失われることはないという優れた特徴を示す。本発明の生体内分解性材料の、このような物性は、特に組織癒着防止膜としての用途を考える場合、組織に装着する際のハンドリング、ゲル化後の軟組織に対する追従性に優れるため、特に好ましい。以上のような特性を有する本発明のポリマーは、生体内分解性材料および生体内分解性シートとしての使用に好適である。

【0038】

【実施例】以下実施例に基づき本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されない。分析方法および条件等を以下に示す。

【<sup>1</sup>H-NMRの測定方法(1)】

機種：日本電子(株)社製、JNM EX270、  
溶媒：D<sub>2</sub>O (0.5N NaOH含有)、  
内部標準：H<sub>2</sub>O (4.70 ppm)。

【<sup>1</sup>H-NMRの測定方法(2)】

機種：日本電子(株)社製、JNM EX270、  
溶媒：DMSO-d<sub>6</sub>、  
測定温度：80°C、  
内部標準：DMSO (2.62 ppm)。

【0039】【生体内分解性シートの作製方法(1)】

ポリマー500mgを100°Cに加熱した金属板に挟み、3分間軟化させた後、10MPaの過重を3分間かける。冷却後フィルムを剥離させて、無色半透明のシートを得る。このシートを水中に投入すると徐々に膨潤し、無色透明のハイドロゲルを形成する。

【生体内分解性シートの作製方法(2)】ポリマー500mgを5mLの塩化メチレンに完全に溶解させる。このポリマー溶液をポリテトラフルオロエチレン樹脂製のシャーレ上にキャストし、室温で1時間溶媒を蒸散させる。次に、このシャーレを60°Cに設定した高温相中で、更に1時間乾燥させ、無色半透明のシートを得る。

【0040】[生体内分解性の試験方法] 生体内分解性試験はまず、一辺2cmの正方形に裁断した試料ポリマーシートを、開腹した8週齢の雄性ddYマウスの腹腔内へ埋入する。ついで、このシートが組織表面の体液を吸収し組織に接着し、迅速に柔軟化して周囲軟組織に對して追従性を示すことを確認した後、腹膜を縫合する。このようなシートが埋入されたマウスを翌日から3日間飼育し毎日3匹ずつ屠殺して開腹後、埋入したシートを取り出し、乾燥重量を測定する。この測定結果と、埋入前のシート重量との差を求めて生体内分解性の試験結果とする。

【0041】[癒着防止試験方法] 癒着防止試験はまず7週齢の雌性Wistarラットの腸骨静脈基部を3-0絹糸で結紮し止血後、約1mm下流を切断する。処置全域に試料のポリマーシートを貼付し、腹膜および皮膚を縫合する。1週間後に開腹し、癒着の有無を判定する。癒着防止率は以下の式に従って算出する。

$$\text{癒着防止率 (\%)} = \{ \text{癒着無し} / \text{全数} \text{ (=癒着有り + 癒着無し)} \} \times 100$$

【0042】[引張試験方法] フィルムの厚みを測定した後、約2mm幅の短冊状に裁断する。各サンプル10回ずつ測定を行い、8点の平均値を求めて結果とする。また、最大荷重は8点の平均値を断面積で除して求める。

【0043】実施例1：PEGの数平均分子量が20,000、BLA含量が全アミノ酸含量の約70mol%のPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーの評価

[ポリマーの合成] 乾燥不活性ガス雰囲気下、両末端アミノポリエチレングリコール(20,000g/mol)1.0gを40°Cの油浴中でN,N-ジメチルホルムアミド(以下、DMFと略すこともある。)7mLに溶解し、β-ベンジルーレーアスパルテート-N-カルボン酸無水物(以下、BLA-NCAと略すこともある。)800mg(ポリエチレングリコールに対して64当量)を加えた。1晩反応を行った後に、氷冷したジイソプロピルエーテルに滴下し、白色の固体物を沈析させた。固体分を吸引ろ過した後に、塩化メチレンに溶解し、晶析操作を繰り返した。減圧乾燥の後に得たPBLA-PEG-PBLA構造のA<sup>1</sup>B<sup>2</sup>型ブロックコポリマー1.0gをクロロホルム10mLに再溶解させ、0.

43規定の水酸化ナトリウム溶液0.78mLを添加した。室温で10分間反応した後に、ジイソプロピルエーテル中に滴下し、白色の固体分を沈析させた。固体分を吸引ろ過した後に、減圧乾燥し、PEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーを得た。

【0044】[<sup>1</sup>H-NMRの測定] 前記[<sup>1</sup>H-NMRの測定方法(1)]に従い、A<sup>1</sup>B<sup>2</sup>型ブロックコポリマーおよび得られたPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーの<sup>1</sup>H-NMRを測定した。両者のBLA結合量より、以下の式に従って結合BLA含量を算出した。なお、算出にあたっては<sup>1</sup>H-NMRの3.6ppmおよび7.3ppmのピーク面積を用いて結合BLA含量を求めた。

$$\text{BLA含量 (\%)} = [\text{PEG-P (BLA, Asp Na, Asp) ポリマーの結合BLA含量} / \text{A<sup>1</sup>B<sup>2</sup>型ブロックコポリマーのBLA結合量}] \times 100$$

得られたポリマーのBLA含量は、全アミノ酸含量の約70mol%であった。参考のため、PEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーの<sup>1</sup>H-NMRスペクトラムを図1に示した。

【0045】[生体内分解性シートの作製] このように合成したPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーを用いて前記[生体内分解性シートの作製方法(1)]に従い生体内分解性シートを作製した。

【0046】[生体内分解性の試験] 前記[生体内分解性の試験方法]に従い、生体内分解性の試験を行った。開腹した8週齢の雄性ddYマウスの腹腔内へPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーシートを埋入し、手術経過後の残存重量を測定した。この結果を図2に示した。これより、3日後には完全に消失しておらず、6日後には完全に消失しており、開腹部の生体組織の修復に要する時間からみて、3日ではまだ不十分であり、1週間くらいには十分傷口が修復していると考えられるので、理想的であると言える。

【0047】[癒着防止試験] 前記[癒着防止試験方法]に従い、癒着防止試験を行った。20匹のラットを用いてPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーシートについて癒着防止試験を行った。結果を表1に示した。

【0048】

【表1】

表1

接着防止試験		実施例			比較例					
		実施例1	実施例2	実施例3	シート無	比較例1	比較例2	比較例3	比較例4	比較例5
成分	数平均分子量(PEG)	20,000	11,000	20,000	-	20,000	4,000	11,000	20,000	-
	数平均分子量(アミノ酸)	8,500	7,500	7,500	-	10,000	2,000	5,500	9,500	-
	全数平均分子量	28,500	18,500	27,500	-	30,000	6,000	18,500	29,500	-
	半減アミノ酸含量(mol%)	70	50	50	-	100	100	10	70	-
結果	着着あり(回)	4	5	4	9	16	14	14	13	12
	着着なし(回)	16	15	15	1	3	5	4	5	6
	試験回数(回)	20	20	19	10	19	19	13	18	18
	接着防止率(%)	80	75	78	10	13	21	22	28	33
	シート残存	なし	なし	なし	-	あり	なし	なし	あり	なし

【0049】[引張強度試験] PEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーシートを用いて、前記[引張試験方法]に従い、引張強度試験を行った。この結果を図3に示した。また、代表的な応力-歪曲線を参考として図4に示した。図3より、引張強度は劣るが歪みが大きくしなやかな材料であることがわかる。また、図4より、本ポリマーは降伏点以後破断せず、塑性変形が認められるため、ハンドリングがよいといえる。

【0050】実施例2: PEGの数平均分子量が11,000、BLA含量が全アミノ酸含量の約50mol%のPEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーの評価

[ポリマーの合成]両末端アミノポリエチレングリコール(11,000g/mol)とし水酸化ナトリウム溶液を1.86mLとすること以外は実施例1と同様の操作を行い、PEG-P(BLA, AspM, Asp)ポリマーを得た。

【0051】[<sup>1</sup>H-NMRの測定]実施例1の[<sup>1</sup>H-NMRの測定(1)]と同様にして、得られたPEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーの<sup>1</sup>H-NMRを測定し、結合BLA含量を算出した。得られたポリマーのBLA含量は、全アミノ酸含量の約50mol%であった。

【0052】[生体内分解性シートの作製]このように合成したPEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーを用いて前記[生体内分解性シートの作製方法(1)]に従い生体内分解性シートを作製した。

【0053】[生体内分解性の試験]前記[生体内分解性の試験方法]に従い、生体内分解性の試験を行った。開腹した8週齢の雄性ddyマウスの腹腔内へPEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーシートを埋入し、手術経過後の残存重量を測定した。この結果を図2に示した。

【0054】[接着防止試験]前記[接着防止試験方法]に従い、接着防止試験を行った。20匹のラットを用いてPEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーシートについて接着防止試験を行った。結果を表1に示した。

【0055】実施例3: PEGの数平均分子量が20,

000、BLA含量が全アミノ酸含量の約50mol%のPEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーの評価

[ポリマーの合成]BLA-NCA量をポリエチレングリコールに対して100当量、水酸化ナトリウム溶液1.80mLとすること以外は実施例1と同様の操作を行い、PEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーシートを得た。

【0056】[<sup>1</sup>H-NMRの測定]実施例1の[<sup>1</sup>H-NMRの測定(1)]と同様にして、得られたPEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーの<sup>1</sup>H-NMRを測定し、結合BLA含量を算出した。得られたポリマーのBLA含量は、全アミノ酸含量の約50mol%であった。

【0057】[生体内分解性シートの作製]このように合成したPEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーを用いて前記[生体内分解性シートの作製方法(1)]に従い生体内分解性シートを作製した。

【0058】[生体内分解性の試験]前記[生体内分解性の試験方法]に従い、生体内分解性の試験を行った。開腹した8週齢の雄性ddyマウスの腹腔内へPEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーシートを埋入し、手術経過後の残存重量を測定した。この結果を図2に示した。

【0059】[接着防止試験]前記[接着防止試験方法]に従い、接着防止試験を行った。19匹のラットを用いてPEG-P(BLA, Asp-Na, Asp)ポリマーシートについて接着防止試験を行った。結果を表1に示した。

【0060】実施例4: PEGの数平均分子量が20,000、BLG含量が全アミノ酸含量の約30mol%のPEG-P(BLG, Glu-Na, Glu)ポリマーの評価

BLA-NCAの代わりにアーベンジル-ルーグルメート-N-カルボン酸無水物(以下、BLG-NCAと略することもある。)を用いること以外は実施例1と同様の操作を行い、PEG-P(BLG, Glu-Na, Glu)ポリマーシートを得た。

[<sup>1</sup>H-NMRの測定]実施例1の[<sup>1</sup>H-NMRの測定

(1) ]と同様にして、得られたPEG-PPPEG-P(BLG, Glu·Na, Glu)ポリマーの<sup>1</sup>H-NMRを測定し、結合BLG含量を算出した。得られたポリマーのBLG含量は、全アミノ酸含量の約30mol%であった。

【0061】比較例1：PEGの数平均分子量が20,000、BLAユニット数が50のPBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーの評価

乾燥不活性ガス雰囲気下、両末端PEG(20,000g/mol)1.0gを40℃の油浴中でDMF7mLに溶解し、BLA-NCA800mg(PEGに対して64当量)を加えた。1晩反応を行なった後に、氷冷したジイソプロピルエーテルに滴下し、白色の固体物を沈析させた。固体分を吸引ろ過した後に、塩化メチレンに溶解し、晶析操作を繰り返し、PBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーを得た。

【<sup>1</sup>H-NMRの測定】前記【<sup>1</sup>H-NMRの測定方法(2)】に従い、得られたPBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーの<sup>1</sup>H-NMRを測定し、結合BLA含量を算出した。得られたポリマーのBLA含量はポリマー1分子あたり約50ユニットであった。

【0062】【生体内分解性シートの作製】このように合成したPBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーを用いて前記【生体内分解性シートの作製方法(2)】に従い生体内分解性シートを作製した。

【0063】【生体内分解性の試験】前記【生体内分解性の試験方法】に従い、生体内分解性の試験を行った。開腹した8週齢の雄性ddyマウスの腹腔内へPBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーシートを埋入し、手術経過後の残存重量を測定した。この結果を図2に示した。

【0064】【癒着防止試験】前記【癒着防止試験方法】に従い、癒着防止試験を行った。18匹のラットを用いてPBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーシートについて癒着防止試験を行った。結果を表1に示した。

【0065】比較例2：PEGの数平均分子量が4,000、BLAユニット数が20のPBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーの評価

両末端アミノポリエチレングリコール(4,000g/mol)としBLA-NCAを1.74g(PEGに対して28当量)とすること以外は比較例1と同様の操作を行い、PBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーを得た。

【<sup>1</sup>H-NMRの測定】前記【<sup>1</sup>H-NMRの測定方法(2)】に従い、得られたPBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーの<sup>1</sup>H-NMRを測定し、結合BLA含量を算出した。得られたポリマーのBLA含量は1分子あたり約20ユニットであった。

【0066】【生体内分解性シートの作製】このように

合成したPBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーを用いて前記【生体内分解性シートの作製方法(2)】に従い生体内分解性シートを作製した。

【0067】【生体内分解性の試験】前記【生体内分解性の試験方法】に従い、生体内分解性の試験を行った。開腹した8週齢の雄性ddyマウスの腹腔内へPBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーシートを埋入し、手術経過後の残存重量を測定した。この結果を図2に示した。

【0068】【癒着防止試験】前記【癒着防止試験方法】に従い、癒着防止試験を行った。18匹のラットを用いてPBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーシートについて癒着防止試験を行った。結果を表1に示した。

【0069】比較例3：PEGの数平均分子量が11,000、BLA含量が全アミノ酸含量の約10mol%のPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーの評価

【ポリマーの合成】両末端アミノポリエチレングリコール(11,000g/mol)とし水酸化ナトリウム溶液を3.34mLとすること以外は実施例1と同様の操作を行い、PEG-P(BLA, Asp M, Asp)ポリマーを得た。

【0070】【<sup>1</sup>H-NMRの測定】実施例1の【<sup>1</sup>H-NMRの測定(1)】と同様にして、得られたPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーの<sup>1</sup>H-NMRを測定し、結合BLA含量を算出した。得られたポリマーのBLA含量は、全アミノ酸含量の約10mol%であった。

【0071】【生体内分解性シートの作製】このように合成したPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーを用いて前記【生体内分解性シートの作製方法(1)】に従い生体内分解性シートを作製した。

【0072】【癒着防止試験】前記【癒着防止試験方法】に従い、癒着防止試験を行った。18匹のラットを用いてPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーシートについて癒着防止試験を行った。結果を表1に示した。

【0073】比較例4：PEGの数平均分子量が20,000、BLA含量が全アミノ酸含量の約90mol%のPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーの評価

【ポリマーの合成】水酸化ナトリウム溶液を0.26mLとすること以外は実施例1と同様の操作を行い、PEG-P(BLA, Asp M, Asp)ポリマーを得た。

【<sup>1</sup>H-NMRの測定】実施例1の【<sup>1</sup>H-NMRの測定(1)】と同様にして、得られたPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーの<sup>1</sup>H-NMRを測定し、結合BLA含量を算出した。得られたポリマーのBLA含量は、全アミノ酸含量の約90mol%であつ

た。

【0074】[生体内分解性シートの作製] このように合成したPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーを用いて前記[生体内分解性シートの作製方法(1)]に従い生体内分解性シートを作製した。

【0075】[癒着防止試験] 前記[癒着防止試験方法]に従い、癒着防止試験を行った。18匹のラットを用いてPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーシートについて癒着防止試験を行った。結果を表1に示した。

【0076】比較例5: 市販の癒着防止シートの評価  
[癒着防止試験] 前記[癒着防止試験方法]に従い、癒着防止試験を行った。ヒアルロン酸ナトリウムとカルボキシメチルセルロースを2:1で含有する市販の合成吸収性癒着防止シート(以下、ヒアルロン酸Na・CMCと略すこともある。Genzyme社製)を用い、18匹のラットを用いて癒着防止試験を行った。その結果を表1に示した。

【0077】[引張強度試験] ヒアルロン酸Na・CMCポリマーシートを用いて、前記[引張試験方法]に従い、引張強度試験を行った。この結果を図3に示した。また、代表的な応力-歪曲線を参考として図4に示した。また、本発明のポリマーを用いた実施例においては、生体内分解性材料としてシート状でラットの腹腔内に大量に埋入した場合においても、ラットに異常は全く認められなかった。

【0078】以上の結果から、本発明のポリマーは、生体内で良好な分解性を有する材料であることがわかる。また、本発明のポリマーは生体内分解性材料としてシート状でラットの腹腔内に大量に埋入した場合においても、ラットに異常は全く認められず、かつ、1週間後に開腹するとシートは完全に分解されて消失し、術部の癒着が起ららないという優れた効果を示した。PBLA-PEG-PBLAブロックコポリマーシートをラットの

腹腔内に大量に埋入した場合、シートが完全に消失せず、長期にわたって体内に残存する場合があることが確認されている。実際の手術では、癒着防止シートを一度に複数枚使用するケースが頻繁にあることから、このような良好な分解性は非常な利点である。

【0079】また、本発明のポリマーを用いて作製されたシートは良好な力学的特性を示し、ヒアルロン酸Na・CMCが硬くて脆い材料であり使用時に破損する危険性が高いのに対し、乾燥状態で500%以上伸張させた場合でも破断しないといった優れた力学的特性を示した。実際に、本発明のポリマーを用いて作製されたシートは腹腔内に挿入した場合、シートによる軟組織の損傷やシート自身の破損は全くなく、かつ、腹腔内の水分を吸収し軟組織に接着した。従って本発明のポリマーは、生体内分解性材料または組織癒着防止膜等に好適であることがわかる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、実施例1において合成されたPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーの<sup>1</sup>H-NMRスペクトラムを示す図である。

【図2】図2は、実施例1、実施例2において作製されたPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーシートおよび比較例1、比較例2において作製されたPBLA-PEG-PBLAブロックポリマーシートのマウス腹腔内における生分解性を示す図である。

【図3】図3は、実施例1において合成されたPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーおよびヒアルロン酸Na・CMC癒着防止シートの引張強度試験結果を示す図である。

【図4】図4は、実施例1において合成されたPEG-P(BLA, Asp Na, Asp)ポリマーおよびヒアルロン酸Na・CMC癒着防止シートの引張強度試験の応力-歪曲線を示す図である。

【図1】

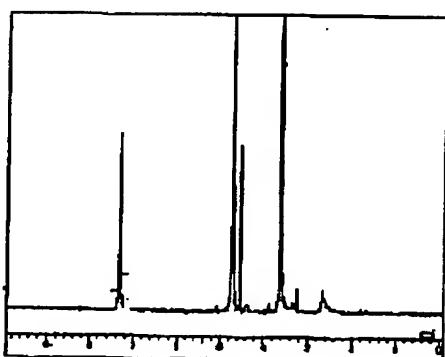


図1

【図2】

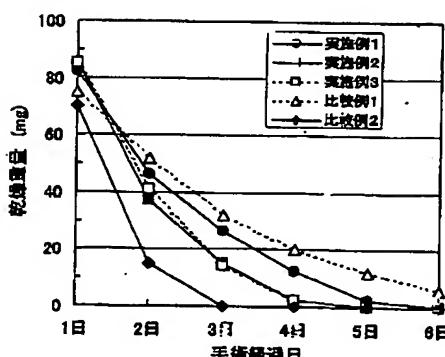


図2

【図3】

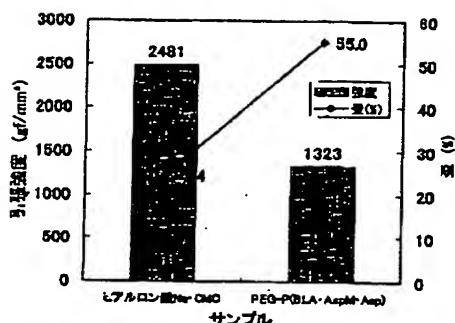


図3

【図4】

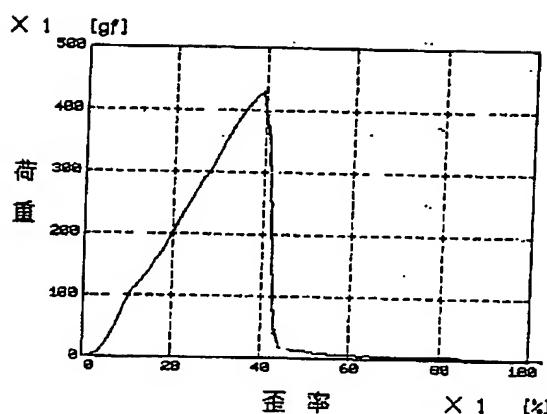


図4

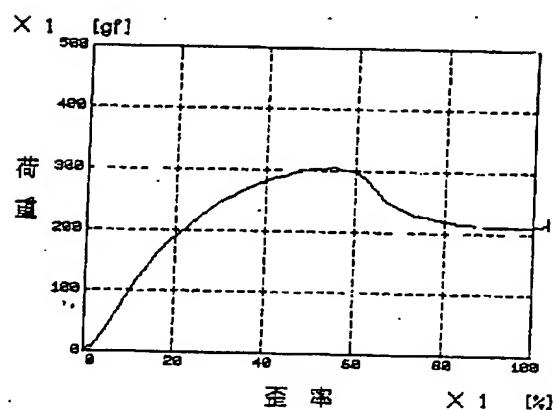


図4

フロントページの続き

F ターム(参考) 4C081 AB11 AC03 BA16 BB08 BC02  
 CA181 CA242 CC02 DA02  
 DC12 EA03  
 4F071 AA51 AA78 AH19 BB03 BC01  
 4J005 AA04 BD05